

## **La fosfatasi 2A (PP2A) è necessaria per il mantenimento dell'integrità cromosomica in *Drosophila***

Chiara Merigliano, Antonio Marzio, Roberto Piergentili, Maurizio Gatti, e Fiammetta Vernì

Dipartimento di Biologia e Biotecnologie Università di Roma "La Sapienza"

Uno degli eventi chiave della risposta al danno del DNA (DDR) è la fosforilazione della variante istonica H2AX (H2Av in *Drosophila*) nei siti di danno per formare  $\gamma$ -H2AX, che recluta una serie di fattori che bloccano il ciclo cellulare e contribuiscono alla riparazione del DNA. Questi fattori formano foci nucleari, visibili citologicamente, che si dissolvono quando il danno è stato riparato. Studi recenti hanno dimostrato che le fosfatasi mediano la regressione dei foci defosforilando  $\gamma$ -H2AX. Tuttavia, un ruolo diretto di questi enzimi nel mantenimento dell'integrità cromosomica non è stato ancora dimostrato.

Abbiamo isolato la mutazione letale *tw<sup>s</sup><sup>430</sup>* nel gene *twins* (*tw*), che codifica per la subunità regolativa B55 della serina treonina fosfatasi 2A (PP2A) di *Drosophila*. Questa mutazione causa un'elevata frequenza di aberrazioni cromosomiche (55%) nei neuroblasti larvali. Inoltre la mutazione *tw<sup>s</sup><sup>430</sup>* influenza la regressione dei foci  $\gamma$ -H2Av indotti dai raggi X. Nei cervelli dei mutanti *tw<sup>s</sup><sup>430</sup>* questi foci persistono più a lungo rispetto al controllo; la fosfatasi Twins si comincia ad accumulare nei nuclei quando i foci iniziano a dissolversi, suggerendo un suo coinvolgimento nella defosforilazione di  $\gamma$ -H2Av. 15 minuti dopo la somministrazione dei raggi X, l'indice mitotico (IM) dei cervelli mostra una forte riduzione e rimane più basso rispetto a quello dei controlli non irradiati per circa due ore. Ciò non accade cervelli irradiati dei mutanti *tw<sup>s</sup><sup>430</sup>*, dove l'andamento dell'IM nel tempo è molto simile a quello dei controlli non irradiati. Questi dati suggeriscono che la fosfatasi PP2A possa avere un ruolo anche nel *checkpoint* G2/M.

L'analisi citologica di doppi mutanti ha mostrato che le mutazioni nel gene *tefu* (ATM) sono epistatiche sulle mutazioni nel gene *twins*; al contrario, i doppi mutanti *mei-41* (ATR); *tw* presentano una frequenza di aberrazioni cromosomiche significativamente più alta rispetto a quella dei singoli mutanti. Ciò suggerisce che la fosfatasi PP2A di *Drosophila* sia implicata nella defosforilazione di alcuni substrati di ATM che, nella loro forma fosforilata, interferiscono con i normali processi di riparazione.

La parziale inattivazione della subunità B55 della PP2A mediante RNAi induce aberrazioni cromosomiche sia in colture di fibroblasti umani che in cellule HeLa. Questi risultati dimostrano la conservazione funzionale della proteina PP2A dalla *Drosophila* all'uomo, mettendo in evidenza una stretta correlazione tra la regolazione dei foci di riparazione e il mantenimento dell'integrità genomica.